

---

## Abstract

The transition from vegetative to reproductive growth in *Arabidopsis thaliana* is tightly controlled by a complex regulatory network of flowering pathways that are regulated by environmental and endogenous cues. These diverse pathways ultimately converge on the transcriptional regulation of several integrator genes that activate floral meristem identity genes to commit primordia to initiate floral development. Notable among these floral integrator genes are *FLOWERING LOCUS T (FT)*, *TWIN SISTER OF FT (TSF)* and *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO 1 (SOC1)*, which contribute to the photoperiodic, ambient temperature as well as gibberellin floral inductive pathways. These floral activators are also repressed by other floral integrators such as *FLOWERING LOCUS C (FLC)* and *SHORT VEGETATIVE PHASE (SVP)*, which form a protein complex that mainly contributes to the vernalization and ambient temperature pathways. In contrast to the environmental pathways, the developmental or endogenous pathways are still poorly defined, so that when and where they act in the plant to control flowering remains controversial. Here, several genetic and molecular approaches have been exploited to extend our knowledge of these endogenous pathways and their roles at the shoot apical meristem (SAM) during floral transition.

The *svp-41 flc-3 ft-10 tsf-1 soc1-2* quintuple mutant was constructed to inactivate all of the major environmental pathways so that flowering of these mutant plants occurs via endogenous pathways independently of environmental signals. The quintuple mutant was then used as progenitor for a sensitized forward genetic screen to isolate mutants that influenced flowering time in the absence of the environmental pathways. Mutations induced in this background were identified by fast isogenic mapping as an approach to identify novel flowering-time genes contributing to the endogenous flowering pathways. Three independent candidate mutations were identified that appear to affect genes not previously shown to regulate flowering time. Among them, a mutation causing late flowering that decreased plastochron length was confirmed by complementation analysis. The candidate gene, named *CHROMATIN REMODELING 4 (CHR4)*, encodes a mating type switching/sucrose non fermenting (SWI/SNF) nuclear-localized chromatin remodeling factor of the Chromodomain Helicase DNA binding protein 3 (CHD3) group.

A further set of experiments focused on *APETALA 2 (AP2)*, which encodes a transcription factor that acts as a floral repressor in the age pathway and whose mRNA is a target of microRNA172 (miR172). AP2 delays flowering especially under short-day (SD) conditions. AP2 was expressed in younger tissues, such as shoot apices and primordia of leaves and flowers. The expression level of miR172 increased with developmental age and based on confocal imaging it appeared to down-regulate AP2 protein levels in the inflorescence meristem. Moreover, AP2 regulates meristem maintenance and flower development. Transgenic plants expressing from *AP2* regulatory sequences forms of *AP2* mRNA resistant to miR172 produced more flowers, accelerated the rate of bud production, enlarged shoot meristem size by increasing cell division rate and expanded the expression domain of an auxin output reporter. My data indicate that AP2 functions downstream of miR172 in flowering-time regulation and shoot-meristem maintenance mainly in the central zone (CZ) of the SAM.

In conclusion, genetic and molecular analyses identified several novel genes that control flowering time and extended our knowledge of endogenous flowering pathways in the SAM.

## Zusammenfassung

Bei *Arabidopsis thaliana* wird der Wechsel von vegetativem zu reproduktivem Wachstum stark kontrolliert. Dies geschieht durch ein komplexes regulatorisches Netzwerk von Regulationswegen, die durch Umweltsignale und endogene Signale gesteuert werden. Diese verschiedenen Regulationswege laufen letztendlich bei der Transkriptionsregulation mehrerer Integratorgene zusammen, die florale Meristem-Identitätsgene aktivieren, um Anlagen auszubilden und so die florale Entwicklung zu initiieren. Wichtige Integratorgene sind *FLOWERING LOCUS T (FT)*, *TWIN SISTER OF FT (TSF)* und *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO 1 (SOC1)*, die zu floralen Induktionswegen gehören, welche auf Signale wie Photoperiode, Umgebungstemperatur und Gibberelline reagieren. Diese floralen Aktivatoren werden auch von anderen floralen Integratoren wie *FLOWERING LOCUS C (FLC)* und *SHORT VEGETATIVE PHASE (SVP)* gehemmt, die einen Proteinkomplex bilden, der die Regulation der Vernalisation und Umgebungstemperatur stark beeinflusst. Im Gegensatz zu der Regulation durch Umwelteinflüsse, sind der Entwicklungsablauf und die endogenen Regulationswege kaum definiert, so dass ihre Wirkungsweise, wann und wo in der Pflanze der Blühzeitpunkt ausgelöst wird, umstritten bleibt. An dieser Stelle haben wir mit verschiedenen molekularen Methoden unsere Erkenntnisse dieser endogenen Regulationswege und ihrer Funktion am apikalen Sprossmeristem (SAM) bei der Entwicklung der Blüte vertieft.

Die fünffache Mutante *svp-41 flc-3 ft-10 tsf-1 soc1-2* wurde zur Inaktivierung aller wichtigen Regulationswege von Umwelteinflüssen entwickelt, so dass die Blüte dieser Mutanten über endogene Regulationswege, unabhängig von Umweltsignalen, ausgelöst wird. Die Fünffachmutante wurde anschliessend als Vorläufer für einen sensibilisierten "Forward Genetic Screen" genutzt, um die Mutanten zu isolieren, die den Blühzeitpunkt in Abwesenheit von umweltspezifischen Regulationswegen beeinflussen. Mutationen, die in diesem Hintergrund induziert wurden, wurden mit schneller isogener Kartierung identifiziert, um neue Gene zu identifizieren, die den Blühzeitpunkt als Reaktion auf endogene Regulationswege bestimmen. Es wurden drei unabhängige Kandidatenmutationen identifiziert, die scheinbar Gene beeinflussen, die bislang nicht als an der Regulation des Blühzeitpunkts beteiligte Gene bekannt waren. Von diesen wurde eine Mutation, die eine späte Blüte verursacht und die Plastochronlänge verkürzt, durch Komplementierungsanalyse

nachgewiesen. Das Kandidatengen, genannt CHROMATIN REMODELING 4 (CHR4), kodiert einen SWI/SNF nuklear-lokalisierten Chromatin-Remodellierungsfaktor der Gruppe Chromodomain Helicase DNA binding protein 3 (CHD3).

Eine weitere Reihe von Experimenten konzentrierte sich auf APETALA 2 (AP2). AP2 kodiert einen Transkriptionsfaktor, der als floraler Repressor im entwicklungsalters-gesteuerten Signalweg beteiligt ist und dessen mRNA ein Ziel von miR172 ist. AP2 verzögert den Blühzeitpunkt, insbesondere unter Kurztag-Bedingungen (SD). AP2 wurde in jüngeren Geweben exprimiert, wie z.B. in der Sprossspitze und Blatt- und Blütenansätzen. Der Expressionsgrad von miR172 stieg mit dem Entwicklungsalter an und schien, nach den Ergebnissen konfokaler Mikroskopie, den AP2-Proteinspiegel im Blütenstandsmeristem herunterzuregulieren. Darüber hinaus reguliert AP2 die Erhaltung des Meristems und die Entwicklung der Blüte. Transgene Pflanzen, die miR172 resistente Formen der AP2 mRNA von AP2-Regulierungssequenzen exprimieren, brachten mehr Blüten hervor, beschleunigten die Knospenproduktion, vergrößerten den Spross durch Erhöhung der Zellteilungsrate und erweiterten die Expressionsdomäne eines Auxin-Ausgangsreporters. Meine Daten deuten darauf hin, dass AP2 bei der Regulation des Blühzeitpunkts und der Erhaltung des Sprossmeristemshauptsächlich in der Kernzone (CZ) des SAM funktioniert.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass mit genetischen und molekularen Analysen verschiedene neue Gene bestimmt wurden, die den Blühzeitpunkt regulieren und unser Wissen über endogene Regulationswege in SAM erweitern.